

As culturas bacterianas puras de *Vibrio cholerae* (VC) podem ser armazenadas por períodos de tempo variáveis, dependendo do método de armazenamento, do equipamento ou instalações laboratoriais disponíveis e das aplicações a jusante. Os isolados devem ser cuidadosamente preparados para armazenamento:

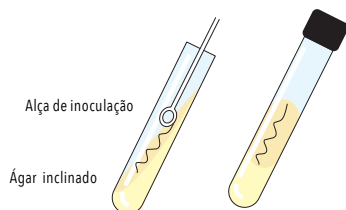
1. Selecionar uma colônia de CV confirmada e inocular em meios não seletivos frescos*.
2. Incubar a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 18-24 horas.
3. Verificar a pureza da cultura, garantindo a presença de colônias individuais bem isoladas, sem contaminantes. Observe a aparência do isolado e, em seguida, realize um teste de oxidase e sorologia para confirmar.
4. Independentemente do método de conservação utilizado, todos os tubos devem ser cuidadosamente rotulados com marcadores permanentes ou códigos de barras e registados em registos adequados.

INCLINAÇÕES NÃO SELETIVAS

Objeto: Estirpes de existências laboratoriais.

Condições de armazenamento: $22-25^\circ\text{C}$ no escuro.

Materiais: Inclinação não seletiva dos meios*, laço, tampas, vedação fita adesiva ou parafilme, óleo mineral.



POP:

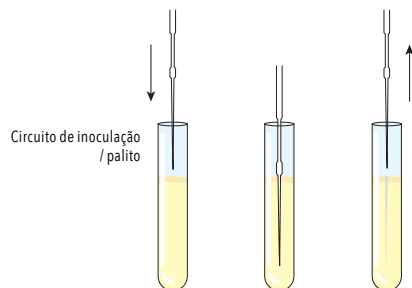
1. Inocular a superfície do ágar usando um laço de uma placa fresca de cultura pura, evite ir para o fundo da inclinação onde o líquido pode se acumular.
2. Substitua a tampa frouxamente.
3. Incubar a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 18-24 horas.
4. Verifique o crescimento.
5. Uma camada de óleo mineral pode ser adicionada, antes de fechar firmemente a tampa, para criar uma vedação hermética para evitar a secagem.

FACADAS NÃO SELETIVAS

Objeto: Envio de amostras e estirpes de stock laboratorial.

Condições de armazenamento: $22-25^\circ\text{C}$ no escuro.

Materiais: Facada não seletiva semissólida*, alça estéril ou palito, tampas e fita selante ou parafilme, óleo mineral.



POP:

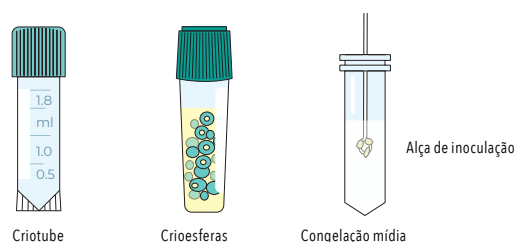
1. Inocular a facada de uma placa fresca de cultura pura, insira um laço ou palito fortemente carregado no tubo e empurre através do ágar até que esteja a aproximadamente 1 cm do fundo..
2. Retire a ferramenta de inoculação.
3. Substitua a tampa frouxamente.
4. Incubar a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 18-24 horas.
5. Verifique o crescimento.
6. Uma camada de óleo mineral pode ser adicionada, antes de fechar firmemente a tampa, para criar uma vedação hermética para evitar a secagem.

CONGELAÇÃO A TEMPERATURA ULTRA BAIXA

Objeto: Armazenagem a longo prazo de estirpes, investigação ou manutenção de existências.

Condições de armazenamento: $\leq 70^\circ\text{C}$.

Materiais: Meios líquidos**, solução-mãe de glicerol estéril, criotubo, congelador, congelador $\leq 70^\circ\text{C}$, opcional – criobead frasco para injetáveis, vórtice.



POP:

1. Para preparar o meio de congelamento, adicione glicerol de estoque ao meio líquido para uma concentração final de glicerol a 10% em um criotubo.
2. Inocular uma carga pesada de uma placa fresca de cultura pura em tubo preparado.
3. Ou se usar criobeads: siga as instruções do fabricante. Adicione a cultura bacteriana ao frasco para injetáveis de criobead.
4. Misture bem ou faça um vórtice.
5. Registrar o número da caixa congeladora e a posição do tubo na caixa.
6. Colocar imediatamente no congelador a $\leq 70^\circ\text{C}$.

* Agar não-seletivo, como Mueller Hinton (recomendado), infusão de coração cerebral, ou soja tripticase pode ser usado.

** Pode ser utilizado um meio de cultura líquido adequado, como o caldo de soja tripticase, o caldo Brucella ou o caldo Luria Bertan.

† O uso de até 30% de glicerol tem sido relatado, no entanto, ATCC recomenda uma concentração final de 10% <https://www.atcc.org/resources/culture-guides/bacteriology-culture-guide>.

‡ O tempo de armazenamento pode depender do número de vezes que as amostras são abertas ou do número de ciclos de congelação.